

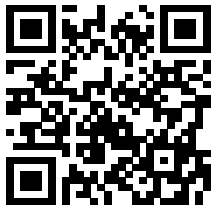
# Anti-aging Effect of Ganoderol A in UVA-irradiated Normal Human Epidermal Keratinocytes

Joong Hyun Shim

Faculty of Cosmetics and Beauty Biotechnology, Semyung University, Jecheon-si, Chungcheongbuk-do, Korea

**Corresponding author:** Joong Hyun Shim, Faculty of Cosmetics and Beauty Biotechnology, Semyung University, 65 Semyung-ro, Jecheon-si, Chungcheongbuk-do 27136, Korea  
Tel.: +82 43 649 1615  
Fax: +82 43 649 1730  
Email: jhshim@semyung.ac.kr

Received December 17, 2020  
Revised January 14, 2021  
Accepted January 18, 2021  
Published March 30, 2021



## Abstract

**Purpose:** This research was carried out to investigate the moisturizing effects of Ganoderol A on normal human epidermal keratinocytes (NHEKs). **Methods:** The moisturizing effects of Ganoderol A on NHEKs were measured by quantitative real-time RT-PCR to verify the gene expressions related to skin hydration, hyaluronic acid (HA)-enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to detect HA production, and cell viability assays. **Results:** Ganoderol A increased the mRNA levels of the aquaporin 3 (*AQP3*) and hyaluronan synthase 2 (*HAS2*) genes and the production of HA in NHEKs. On the other hand, Ganoderol A decreased the mRNA levels of the keratin 1 (*KRT1*) and keratin 10 (*KRT10*) genes, which are known as differentiated keratinocyte markers, in NHEKs. **Conclusion:** This research showed the moisturizing effects of Ganoderol A. The results indicate that Ganoderol A can be a potent functional ingredient for skin hydration and anti-aging products. Further study is warranted regarding the use of Ganoderol A to develop not only cosmetics but also food and medicine.

**Keywords:** Ganoderol A, Hyaluronic acid, *AQP3*, *HAS2*, Moisturizing

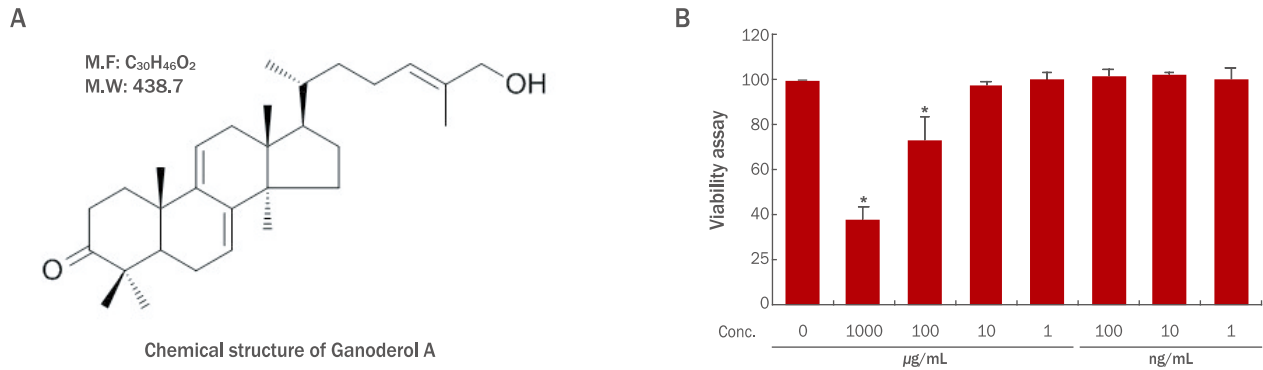
## Introduction

피부는 신체의 최외각층에 존재하며 외부환경으로부터 최초 방어벽 역할을 하며 화학물질, 방사선, 자외선(ultra violet, UV) 및 미생물 등과 같은 다양한 유해인자로부터 신체를 보호한다. 피부가 이러한 유해인자에 의해 손상을 받게 되면 신체는 빠르게 이 기능을 회복하기 위하여 새로운 피부를 재생시킨다(Assefa *et al.*, 2005; Fuchs, 2007).

외부자극인 자외선은 양면성을 지닌 자극으로, vitamin D3를 만들도록 유도하기도 하지만 백반증이나 건선 등의 특정 질병을 치료하는데 도움을 주기도 한다. 하지만 자외선에 의하여 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)이 과도하게 생성되거나 세포를 구성하는 유기분자인 단백질, DNA, 지질 등에 산화적 손상을 일으켜 피부의 광노화를 유발하거나 심하면 암을 야기할 수 있다고 알려져 있다. 또한 자외선 조사에 따른 산화적 스트레스는 TNF- $\alpha$ 와 같은 염증성 사이토카인의 생성을 유도하고 angiotensin converting enzyme (ACE)

와 cytosolic phospholipase A2 (cPLA2), cyclooxygenase-2 (COX-2)의 발현을 증가시킨다. 이러한 염증반응은 피부의 광노화를 유발하고 피부건조 및 과도한 색소침착을 유발한다고 알려져 있다(Bickers & Athar, 2006; Fisher *et al.*, 2002).

표피에 존재하는 각질형성세포가 자외선에 노출되면, *AQP3*의 발현이 감소하여 피부건조를 야기한다고 알려져 있다(Cao *et al.*, 2008). *AQPs*는 소수성을 띄고 세포막에 삽입되어 있는 수송단백질로, 외부의 수분을 세포 내부로 이동시키는 막단백질 역할을 한다(Hara-Chikuma *et al.*, 2008; Sougrat *et al.*, 2002). 특히 인간각질형성세포는 *AQP3*가 수분수송에 중요한 기능을 담당하고 있고, 설치류 모델에서의 결과를 살펴보면, *AQP3* knock out 마우스에서 피부건조, 상처치유능 저하 등의 결함을 나타낸다고 보고된 바 있다(Sougrat *et al.*, 2002). 또한 세포외기질의 하나인 히알루론산(hyaluronic acid, HA)을 합성하는 효소인 *HAS2*는 인간각질형성세포에서 자외선에 의해 *HAS2*의 발현이 감소된다는 연구 보고된 바 있다(Hašová *et al.*, 2011; Park & Shim, 2016; Shim & Park,



**Figure 1. Cytotoxicity of Ganoderol A in NHEKs.**

The chemical structure of Ganoderol A (A). NHEKs ( $2 \times 10^4$  cells) were seeded in 96-well cell-culture plates and treated with Ganoderol A at the concentrations indicated for 24 h. Cell viability was measured by the CCK-8 assay. The results are presented as mean $\pm$ SD of the percentage of control optical density for triplicate experiments (B). \* $p < 0.05$  compared to control. NHEKs, normal human epidermal keratinocytes.

2017). 또한 자외선에 의해 노화가 야기된 피부에 히알루론산을 처리하면, 노화현상을 개선시키는 역할을 한다. 자외선은 표피의 기저층에 존재하는 각질형성세포를 과분화 및 과각질화시켜 각질탈락을 가속화시키고 피부의 노화를 야기하는데, 기저층의 각질형성세포가 발현하는 keratin 5 (*KRT5*), keratin 14 (*KRT14*)의 발현을 감소시키고 filaggrin (*FLG*), loricrin (*LOR*), *KRT1*, *KRT10* 등의 유전자 발현을 증가시킨다고 보고되어 있다(Shim & Park, 2017; Eckert *et al.*, 2005).

여러 연구에 의하면 천연 산화방지제와 안토시아닌 및 플라보노이드와 같은 소재가 항염증, 광노화를 억제하는 효과가 있음이 보고되었다. 영지로 알려진 담자균 *Ganoderma lucidum*은 중국, 일본, 한국을 중심으로 전통약제로 사용되어 왔고, 본초강목에서는 영지가 이노작용, 보간, 강장, 기관지염 등 다양한 효과가 있다고 알려진 중요한 약제이다. 지난 30여년간, 많은 연구자들에 의해 영지에 polysaccharide, nucleoside, triterpene, fatty acid, steroid, 아미노산 등이 포함되어 있는 것이 밝혀졌다. 이들 성분 중에서 triterpene과 같은 저분자 물질이 다양하고 유망한 생리활성을 나타내서 많은 주목을 받고있다(Bae *et al.*, 2005). 특별히 Ganoderol A는 *Ganoderma lucidum*에서 추출되는 triterpenes 성분으로

angiotensin converting enzyme의 억제를 통한 항염효과와 UVA 차단효과가 있다고 알려져 있다. 또한 콜레스테롤 합성을 억제하는 효과를 지니고 있음이 보고되었다(Hajjaj *et al.*, 2005; Jin *et al.*, 2015).

Ganoderol A가 인간각질형성세포에서 피부노화 개선 혹은 피부 보습에 효과가 있는지에 관한 연구는 전무한 실정이다. 본 연구에서는 Ganoderol A의 보습과 관련된 *AQP3*, *HAS2* 유전자 발현에 끼치는 영향을 확인해 보고, UVA에 의해 감소된 인간각질형성세포의 HA 생산 능력이 Ganoderol A에 의해 증가되는지 입증하고자 한다. 또한 자외선에 의해 인간각질형성세포의 과분화와 과각질화가 유도된 상태에서 Ganoderol A의 과분화와 과각질화를 억제할 수 있는지 확인해 보고자 한다.

## Methods

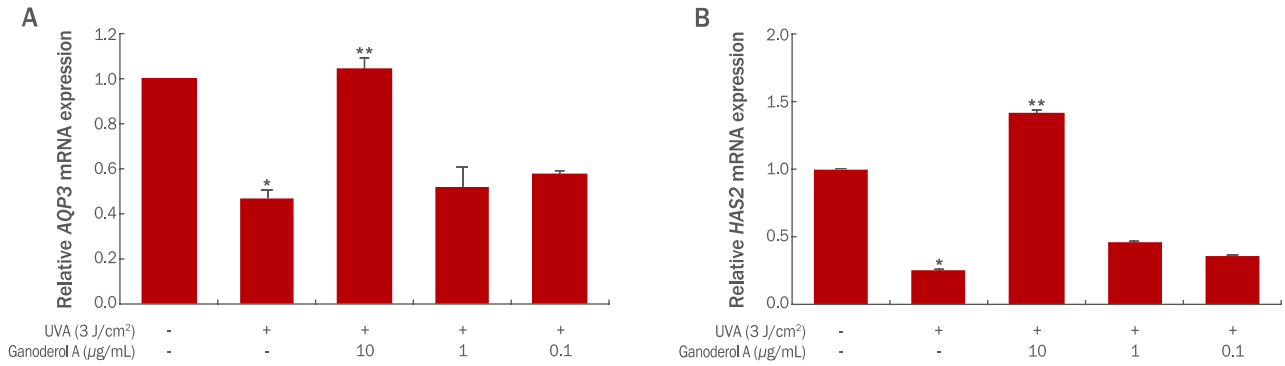
### 1. 실험재료 및 세포배양

본 실험에서 사용된 Ganoderol A는 ChemFaces (CFN99065, Purity  $\geq 98\%$ ; China)에서 구매하여 사용하였다. Ganoderol A의

**Table 1. Gene symbol, name and Assay ID Number in real-time RT-PCR analysis**

Gene Symbol	Gene Name	Assay ID
<i>AQP3</i>	Aquaporin 3	Hs01105469_g1
<i>HAS2</i>	Hyaluronan synthase 2	Hs00193435_m1
<i>FLG</i>	Filaggrin	Hs00856927_g1
<i>LOR</i>	Loricrin	Hs01894962_s1
<i>KRT1</i>	Keratin 1	Hs01549614_g1
<i>KRT10</i>	Keratin 10	Hs01043114_g1
<i>GAPDH</i>	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	43333764F

RT-PCR, reverse transcription-polymerase chain reaction.



**Figure 2. Characterization of Ganoderol A treatment on UVA-irradiated NHEKs.**

Quantitative real-time RT-PCR analysis of the NHEK skin hydration markers AQP3 (A) and HAS2 (B). Values represent the mean±SD of three independent experiments. \* $p < 0.05$  compared to control. \*\*significantly different compared to UVA-treated condition,  $p < 0.05$ . RT-PCR, reverse transcription-polymerase chain reaction; AQP3, aquaporin 3; HAS2, hyaluronan synthase 2; NHEK, normal human epidermal keratinocytes; UVA, ultraviolet A.

효능을 평가하기 위해 normal human epidermal keratinocytes (NHEKs)와 KGM-gold bulletKit은 Lonza (Sweden)로 부터 구입하였다. NHEKs는 5% CO<sub>2</sub>, 습도 100%, 37°C의 조건으로 CO<sub>2</sub> 세포배양기에서 배양하였다.

## 2. 자외선 조사

NHEKs에 광노화를 유도하기 위해 하기의 조건으로 ultraviolet A (UVA)를 처리하였다. NHEKs가 배양되고 있는 35π 조직배양접시에 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM, phenol red free; Welgene, Korea)을 접종한 후, UVA 조사기(BioLink; Vilber Lourmat, France)를 사용하여 3 J/cm<sup>2</sup>의 UVA를 처리하였다(Shim & Park, 2017; Shim, 2018).

## 3. 세포 생존율 분석

NHEKs의 생존율을 확인하기 위하여 cell counting kit-8 (CCK-8; DoGenBio, Korea) assay를 사용하였다. NHEKs를 조직배양접시에 접종한 후, 무혈청 DMEM에 Ganoderol A를 농도 별로 희석하여 처리하였다. NHEKs에 농도별로 시료를 24 h 동안 처리한 후 CCK-8 시약을 DMEM (phenol red free)에 1/10로 희석하여 세포에 처리한 후 4 h 동안 세포배양기에서 반응시켰다. 450 nm 파장에서 흡광도를 측정하였고(Epoch; Biotek, USA), NHEKs를 배양하지 않은 DMEM만 넣어준 흡광도를 blank로 하여 세포 생존율을 계산하였다.

## 4. RNA 추출 및 실시간 유전자 증합효소 연쇄반응(quantitative real-time RT-PCR)

각 조건의 세포에 TRIzol reagent (Invitrogen, USA)를 처리하여 total RNA를 추출하였다. SuperiorScript III Master Mix

(Enzynomix, Korea)를 이용하여 RNA로부터 cDNA를 합성하였으며, 인간각질형성세포 표지인자의 상대적 발현양상을 비교하기 위하여 quantitative real-time RT-PCR (StepOnePlus; Applied Biotechnologies, USA)을 수행하였다(Shim, 2019). 실험에 쓰인 Taqman Gene expression assay (Applied Biotechnologies, USA)는 Table 1에 명기하였다.

## 5. 히알루론산-효소결합 면역흡착법(Hyaluronic acid-Enzyme linked immunosorbent assay, HA-ELISA)

NHEKs에서Ganoderol A에 의한 히알루론산 생성 정도를 확인하기 위해 NHEKs를 24 h 동안 CO<sub>2</sub> 세포배양기에서 배양 후, UVA (3 J/cm<sup>2</sup>)를 조사하였다. UVA 조사 후 10 µg/ml 농도의 Ganoderol A를 처리하여 CO<sub>2</sub> 세포배양기에서 48 h 동안 배양하였다. 배양액 내의 HA 양은 Hyaluronic acid-ELISA kit (Corgenix, USA)를 사용하여 측정하였다.

## 6. 통계처리 및 분석

본 실험에서의 통계분석은 Student's *t*-test법을 사용하였고, 유의 수준 0.05 미만으로( $p < 0.05$ ) 하여 검정하였다.

# Results and Discussion

## 1. Ganoderol A의 농도별 생존율 분석

NHEKs에서 Ganoderol A의 세포독성 여부를 확인하기 위해 cell counting kit-8 (CCK-8) assay를 실시하였다. 대조군은 시료를 처리하지 않았고 Ganoderol A는 각각 1, 10, 100 ng/mL, 1, 10, 100, 1000 µg/mL으로 처리하여 NHEKs의 생존율을 확인하였다.

## Anti-aging Effect of Ganoderol A

Ganoderol A를 100 µg/mL 이상의 농도로 처리시 NHEKs의 생존율이 유의성 있게 감소됨을 확인할 수 있었다(Figure 1B). 10 µg/mL 이하의 농도에서 NHEKs의 생존율이 대조군과 유사함을 확인할 수 있었고 후속 연구에서는 0.1, 1, 10 µg/mL의 Ganoderol A를 처리하여 실험을 진행하였다.

### 2. 자외선 조사와 Ganoderol A 처리에 따른 NHEKs에서의 유전자 발현

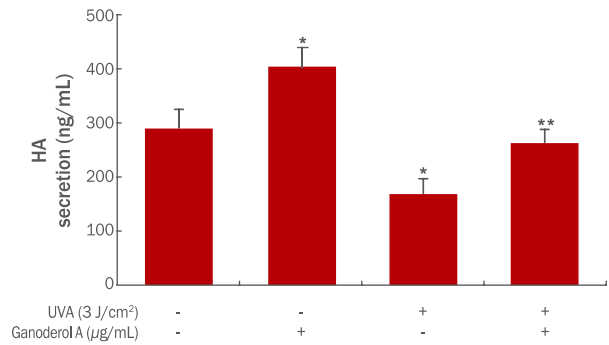
NHEKs에 3 J/cm<sup>2</sup>의 UVA를 조사한 후, Ganoderol A를 농도 별로 24 h 동안 처리하여 NHEKs가 발현하는 대표적인 표지인자인 *AQP3*와 *HAS2* 유전자의 발현양상을 quantitative real-time RT-PCR 실험법을 통하여 확인하였다. *AQP3*와 *HAS2*는 인간각질형성세포가 발현하는 대표적인 유전자로, 세포 외부에 존재하는 수분을 세포 내부로 이동시키거나 표피 내부에 수분을 보존하는 역할과 히알루론산을 생합성하는 역할을 담당하며 보습에 관여하는 표지인자로 알려져 있다(Park & Shim, 2016; Shim & Park, 2017). UVA 조사에 의하여 *AQP3*, *HAS2*와 같은 보습관련 인자 발현이 대조군 대비 각각 53%, 75%로 유의성 있게 감소하였다. Quantitative real-time RT-PCR을 통해 Ganoderol A를 처리한 세포에서의 *AQP3*/*HAS2*의 발현을 확인한 결과, UVA 처리군 대비 10 µg/mL의 Ganoderol A 처리군에서 *AQP3*의 발현이 2.2배, *HAS2*의 발현이 5.6배 가량 증가하는 효과를 확인하였다(Figure 2A, B). 세포 외부에 존재하는 수분을 세포 내부로 수송하는 *AQP3*과 히알루론산(hyaluronic acid, HA)를 생성하는 효소인 *HAS2*의 발현을 증가시킴을 확인함으로써, Ganoderol A가 피부보습에 효과가 있을 것으로 보여진다(Hara-Chikuma *et al.*, 2008; Hašová *et al.*, 2011; Sougrat *et al.*, 2002).

### 3. Ganoderol A의 히알루론산 생성 촉진 효과

*HAS2*는 인간각질형성세포에서 히알루론산을 생성하는 효소로 알려져 있다(Karvinen *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2004). Ganoderol A를 처리하여 *HAS2* 유전자의 발현이 증가된 NHEKs에서 *HAS2*의 대사산물인 히알루론산 단백질의 생성 역시 증가되는지를 확인하기 위하여 히알루론산에 대한 효소 결합 면역흡착법(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)을 통해 확인하였다(Figure 3). 실험 결과, UVA 조사에 의해 42.5% 가량 생성이 감소되었던 히알루론산 생합성이 Ganoderol A 처리에 의해 UVA 조사군 대비 58% 가량 유의성 있게 증가함을 확인하였다. 본 결과는 Quantitative real-time RT-PCR을 통하여 확인된 *HAS2* 유전자 발현 양상과 일관성이 있으며(Figure 2B), Ganoderol A는 *HAS2* 유전자뿐만 아니라, 최종 대사산물인 히알루론산 생성 역시 증가함을 보여준다.

### 4. Ganoderol A에 의한 표피 분화마커 변화

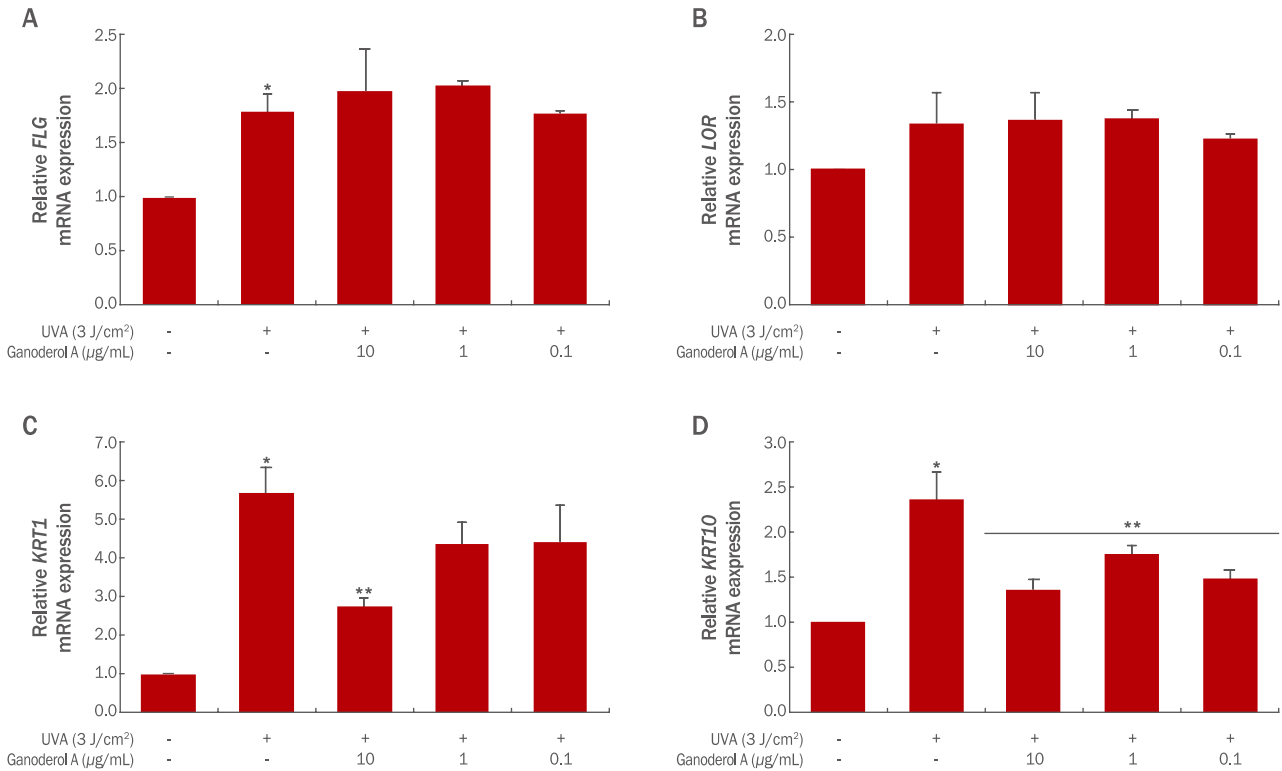
기저층의 각질형성세포는 각질턴오버 과정을 거치면서 각질층



**Figure 3. Effects of Ganoderol A on HA synthesis in NHEKs.**

NHEKs ( $2 \times 10^5$  cells) were seeded in a 60-mm tissue culture dish and treated with Ganoderol A for 48 h. Samples of cell medium were collected and analyzed for HA using ELISA. The data represent the mean±SD of three independent experiments. \* $p < 0.05$  compared to control. \*\*significantly different compared to UVA-treated condition,  $p < 0.05$ . HA, hyaluronic acid; UVA, ultraviolet A; NHEK, normal human epidermal keratinocytes.

으로 이동하여 최종적으로 각질층에서 탈락된다. 기저층에 존재하는 각질형성세포가 유극층, 과립층, 각질층으로 순차적으로 분화되면서 기저층의 각질형성세포가 발현하는 미분화 표지인자인 *KRT5*, *KRT14* 등의 유전자 발현이 점차 감소하고, 각질형성세포의 분화마커인 *FLG*, *LOR*, *KRT1*, *KRT10*과 같은 유전자 발현은 증가한다고 보고되어 있다(Eckert *et al.*, 2005). 따라서 기저층에 존재하는 각질형성세포의 표지인자로 *KRT5/14* 등의 마커가 활용되고, 과립층과 유극층의 각질형성세포에서는 *FLG*, *LOR*, *KRT1/10* 등이 사용된다. 표피층에 자외선과 같은 외인성 노화, 특별히 광노화가 유도되면 각질형성세포의 분화가 촉진되어 과분화/과각질화가 진행된다. 본 실험에서 광노화를 유발할 수 있는 *in vitro* 실험조건으로 NHEKs에 3J/cm<sup>2</sup>의 UVA를 조사하여 NHEKs의 과분화/과각질화를 유도한 상태에서 Ganoderol A를 처리했을 때, *FLG*, *LOR*, *KRT1/10* 유전자의 발현을 quantitative real-time RT-PCR법으로 확인하였다. 위의 4가지 표지인자 중 자외선에 의해 *FLG*, *KRT1*, *KRT10*의 발현이 유의성 있게 증가하였고 *LOR*의 발현에는 큰 영향을 미치지 않았다(Park & Shim, 2016; Shim & Park, 2017). *KRT1* 유전자는 UVA 조사군에 비해 10 µg/mL의 농도의 Ganoderol A에 의해 52% 유의성 있게 감소하였고, *KRT10* 유전자는 10, 1, 0.1 µg/mL의 농도의 Ganoderol A 처리군에서 각각 42, 26, 37% 가량 유의성 있게 감소함을 확인할 수 있었다(Figure 4C, D). 반면 *FLG*과 *LOR* 유전자는 Ganoderol A에 의해 유의성 있는 발현 차이는 나타나지 않았다. 본 결과를 통해 UVA가 각질형성세포의 과분화 및 과각질화를 유발하지만, Ganoderol A가 *KRT1*, *KRT10* 유전자의 발현을 감소시켜 과분화 및 과각질화를 억제시킴으로 UVA에 의한 광노화를 감소시킬 수 있음을 보여주고 있다.



**Figure 4. Differentiated expression of keratinocyte markers upon Ganoderol A treatment of UVA-irradiated NHEKs.**

Quantitative real-time RT-PCR analysis of the representative differentiated markers *FLG* (A), *LOR* (B), *KRT1* (C), and *KRT10* (D). The graphs are shown as the mean±SD of three independent experiments. \* $p < 0.05$  compared to control. \*\*significantly different compared to UVA-treated condition,  $p < 0.05$ . *FLG*, filaggrin; *LOR*, loricrin; *KRT1*, Keratin 1; *KRT10*, Keratin 10; UVA, ultraviolet A; RT-PCR, reverse transcription-polymerase chain reaction; NHEK, normal human epidermal keratinocytes.

## Conclusion

피부노화의 증상으로 각질층이 두터워지고, 염증의 증가 혹은 주름이 증가하는 등의 현상이 있다. 자외선, 열, 미세먼지 등과 같은 외부요인에 의해 피부세포 내 활성산소종의 연쇄 반응을 통해 노화가 촉진되고 피부질환이 야기된다(Kim *et al.*, 2011; Talwar *et al.*, 1995). 또한 노화는 생체 내 존재하는 세포의 감소, 기능저하에 의해 정상적인 기능을 하는 조직으로의 재생, 기능을 하지 못하게 된다(Jones & Rando, 2011; Kirkwood, 2005).

본 연구를 바탕으로 Ganoderol A를 인간각질형성세포에 처리할 적정 농도를 확인할 수 있었다(Figure 1B). *AQP3*과 *HAS2* 유전자의 발현과 히알루론산 단백질 생성 측정에서 Ganoderol A가 유의성 있게 UVA에 의해 감소된 보습인자의 발현을 회복시키는 결과를 나타내었다(Figure 2, 3). 추가적으로 Ganoderol A는 UVA 조사에 의해 증가된 *KRT1*과 *KRT10*의 유전자 발현을 유의성 있게 낮춤으로 NHEKs의 과분화/과각질화를 억제시키는 능력이 있음을 확인할 수 있었다(Figure 4). 이는 Ganoderol A가 피부 보습을 개선하는 후분물질로서의 가능성을 보여준다.

Ganoderol A의 피부 보습 효과를 확인한 결과는 본 연구가 최초이며,

추후 기능성 화장품 및 의약품에 사용될 수 있고 피부노화를 개선할 수 있음을 보여준다. 향후 Ganoderol A이 자외선에 의해 노화된 피부를 개선하는 메커니즘에 대한 추가적인 연구와 본 소재를 이용한 임상연구 등이 진행될 필요가 있을 것으로 보인다.

## Acknowledgements

이 논문은 2021학년도 세명대학교 교내학술연구비 지원에 의해 수행된 연구임.

## Author's contribution

JHS designed, performed experiments, analyzed data, and wrote the manuscript. All figures are created by the author.

## Author details

Joong Hyun Shim (Professor), Faculty of Cosmetics and Beauty Biotechnology, Semyung University, 65 Semyung-ro, Jecheon-si, Chungcheongbuk-do 27136, Korea.

## References

- Assefa Z, Van Laethem A, Garmyn M, Agostinis P. Ultraviolet radiation-induced apoptosis in keratinocytes: on the role of cytosolic factors. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1755: 90-106, 2005.
- Bae WC, Kim YS, Lee JW. Bioactive substances from *Ganoderma lucidum*. *Korean Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33: 75-83, 2005.
- Bickers DR, Athar M. Oxidative stress in the pathogenesis of skin disease. *The Journal of Investigative Dermatology*, 126: 2565-2575, 2006.
- Cao C, Wan S, Jiang Q, Amaral A, Lu S, Hu G, Bi Z, Kouttab N, Chu W, Wan Y. All-trans retinoic acid attenuates ultraviolet radiation-induced down-regulation of aquaporin-3 and water permeability in human keratinocytes. *Journal of Cellular Physiology*, 215: 506-516, 2008.
- Eckert RL, Sturniolo MT, Broome AM, Ruse M, Rorke EA. Transglutaminase function in epidermis. *Journal of Investigative Dermatology*, 124: 481-492, 2005.
- Fisher GJ, Kang S, Varani J, Bata-Csorgo Z, Wan Y, Datta S, Voorhees JJ. Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. *Archives of Dermatology*, 138: 1462-1470, 2002.
- Fuchs E. Scratching the surface of skin development. *Nature*, 445: 834-842, 2007.
- Jin F, Zhao H, Yuan X, Zou S, Wang Q, Ma C, Ren Z, Wang Y. In vitro protective Effect of ganoderol A isolated from *Ganoderma lucidum* against ultraviolet A radiation and its anti-inflammatory. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 14: 415-421, 2015.
- Hara-Chikuma M, Verkman AS. Roles of aquaporin-3 in the epidermis. *Journal of Investigative Dermatology*, 128: 2145-2151, 2008.
- Hašová M, Crhák T, Safránková B, Dvořáková J, Muthný T, Velebný V, Kubala L. Hyaluronan minimizes effects of UV irradiation on human keratinocytes. *Archives of Dermatological Research*, 303: 277-284, 2011.
- Hajjaj H, Macé C, Roberts M, Niederberger P, Fay LB. Effect of 26-oxygenosterols from *Ganoderma lucidum* and their activity as cholesterol synthesis inhibitors. *Applied and Environmental Microbiology*, 71: 3653-3658, 2005.
- Jones DL, Rando TA. Emerging models and paradigms for stem cell ageing. *Nature Cell Biology*, 13: 506-512, 2011.
- Karvinen S, Pasonen-Seppänen S, Hyttinen JM, Pienimäki JP, Törrönen K, Jokela TA, Tammi MI, Tammi R. Keratinocyte growth factor stimulates migration and hyaluronan synthesis in the epidermis by activation of keratinocyte hyaluronan synthases 2 and 3. *The Journal of Biological Chemistry*, 278: 49495-49504, 2003.
- Kim J, Lee CW, Kim EK, Lee SJ, Park NH, Kim HS, Kim HK, Char K, Jang YP, Kim JW. Inhibition effect of *Gynura procumbens* extract on UV-B-induced matrix-metalloproteinase expression in human dermal fibroblasts. *Journal of Ethnopharmacology*, 137: 427-433, 2011.
- Kim S, Kang BY, Cho SY, Sung DS, Chang HK, Yeom MH, Kim DH, Sim YC, Lee YS. Compound K induces expression of hyaluronan synthase 2 gene in transformed human keratinocytes and increases hyaluronan in hairless mouse skin. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 316: 348-355, 2004.
- Kirkwood TBL. Understanding the odd science of aging. *Cell*, 120: 437-447, 2005.
- Park SY, Shim JH. Anti-aging effect of *Psoraleae fructus* extract in UVA-irradiated HaCaT cells. *Asian Journal of Beauty and Cosmetology*, 14: 119-126, 2016.
- Shim JH, Park SY. Anti-aging effect of Diospyros Kaki Thunb extracts in UVA-irradiated epidermal keratinocytes. *Asian Journal of Beauty and Cosmetology*, 15: 170-178, 2017.
- Shim JH. Human dermal stem/progenitor cell-derived conditioned medium ameliorates ultraviolet A-induced damage of normal human epidermal keratinocytes. *Asian Journal of Beauty and Cosmetology*, 16:42-51, 2018.
- Shim JH. Anti-inflammatory effect of Zeaxanthin in RAW264.7 Cells. *Asian Journal of Beauty and Cosmetology*, 17:431-439, 2019.
- Sougrat R, Morand M, Gondran C, Barré P, Gobin R, Bonté F, Dumas M, Verbavatz JM. Functional expression of AQP3 in human skin epidermis and reconstructed epidermis. *The Journal of Investigative Dermatology*, 118: 678-685, 2002.
- Talwar HS, Griffiths CE, Fisher GJ, Hamilton TA, Voorhees JJ. Reduced type I and type III procollagens in photodamaged adult human skin. *The Journal of Investigative Dermatology*, 105: 285-290, 1995.

## 국문초록

# 자외선 조사에 의해 노화된 인간각질형성세포에서 Ganoderol A의 항노화 효능

심중현

세명대학교 화장품뷰티생명공학부 피부기초과학연구실, 충청북도 제천시, 한국

**목적:** 본 연구는 Ganoderol A가 자외선에 의해 광노화가 유발된 인간각질형성세포의 항노화 효능을 확인하기 위해 수행되었다. **방법:** 자외선으로 노화를 유도한 인간각질형성세포에서 Ganoderol A의 보습효과를 확인하기 위해 세포생존율, 보습에 관련된 유전자 발현양상, 히알루론산 단백질의 생합성 정도를 확인하였다. **결과:** Ganoderol A의 항노화 효능을 확인하기 위하여 *AQP3*, *HAS2*, *FLG*, *LOR*, *KRT1*, *KRT10*의 유전자 발현양상을 확인한 결과, 자외선 처리에 의해 감소된 *AQP3*와 *HAS2* 유전자의 발현이 Ganoderol A에 의해 증가하였다. 인간각질형성세포의 과각질화를 유도하는 *KRT1*과 *KRT10*의 발현이 Ganoderol A에 의해 감소하였다. 또한 히알루론산 단백질의 생성이 Ganoderol A 처리에 의해 증가함을 확인하였다. **결론:** 본 연구를 통해 Ganoderol A의 항노화 효능을 확인하였고, 향후 Ganoderol A가 화장품 및 건강식품과 의약품의 개발에 활용될 수 있는 소재로서의 가능성을 확인하기 위해 추가연구가 필요할 것으로 사료된다.

**핵심어:** 벨리테이션, 동시분석, 향산화, 감국, 레몬그라스

이 논문은 2021학년도 세명대학교 교내학술연구비 지원에 의해 수행된 연구임.

## 참고문헌

- 박선영, 심중현. 자외선 조사에 의해 노화된 HaCaT 세포에서 보골지 추출물의 항노화 효능. *아시아뷰티화장품학술지*, 14: 119-126, 2016.
- 심중현, 박선영. 자외선 조사에 의해 노화된 인간각질형성세포에서 감잎 추출물의 항노화 효능. *아시아뷰티화장품학술지*, 15: 170-178, 2017.
- 심중현. 인간 진피유래 줄기세포 배양액에 의한 인간각질형성세포의 노화 개선 효과. *아시아뷰티화장품학술지*, 16: 42-51, 2018.
- 심중현. 제아잔틴에 의한 RAW264.7 세포에서의 항염효과. *아시아뷰티화장품학술지*, 17: 431-439, 2019.

## 中文摘要

### 灵芝醇A对UVA照射的正常人表皮角质形成细胞的抗衰老作用

沁重鉉

世明大学化妆品美容生命工学科 皮肤基础科学研究室, 忠清北道提川市, 韩国

**目的:** 进行这项研究以研究灵芝醇A对正常人表皮角质形成细胞 (NHEK) 的保湿作用。**方法:** 通过定量实时RT-PCR测量灵芝A对NHEKs的保湿作用, 以验证与皮肤水合作用相关的基因表达, 采用透明质酸 (HA-酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测HA的产生, 以及细胞活力测定。**结果:** 灵芝醇A增加了水通道蛋白3 (AQP3) 和透明质酸合酶2 (HAS2) 基因的mRNA水平, 并增加了NHEKs中HA的产生。另一方面, 灵芝醇A降低了NHEK中角蛋白1 (KRT1) 和角蛋白10 (KRT10) 基因的mRNA水平, 这些基因被称为分化角质形成细胞标记。**结论:** 这项研究表明了灵芝醇A的保湿效果。结果表明灵芝A可以作为有效的皮肤保湿和抗衰老功能成分。关于使用灵芝醇A不仅用于开发化妆品而且还用于食品和药品的研究, 尚需进一步研究。

**关键词:** 灵芝醇A, 透明质酸, 水通道蛋白3, 透明质酸合酶2, 保湿